

## 研究报告

## 北京市售鸡肉和猪肉中大肠杆菌污染情况及耐药特征分析

吴萱<sup>1,2,3</sup>, 杨璐<sup>1,4</sup>, 刘艳超<sup>5</sup>, 吴一戈<sup>1,2</sup>, 李会<sup>1,2</sup>, 邵兵<sup>1,2</sup>

- (1. 北京市疾病预防控制中心食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013;
2. 北京市预防医学研究中心, 北京 100020; 3. 首都医科大学公共卫生学院, 北京 100069;
4. 中国农业大学动物医学院国家兽药安全评价中心, 北京 100193;
5. 内蒙古医科大学公共卫生学院, 内蒙古呼和浩特 010110)

**摘要:**目的 分析北京市售生鸡肉和生猪肉中大肠杆菌的污染情况以及耐药表型及耐药基因型。方法 从北京市辖6个区的大型超市和农贸市场随机采集259份生鲜肉类样品(鸡肉168份、猪肉91份), 增菌后分离大肠杆菌, 并使用基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱和16S rRNA测序对分离菌株进行鉴定。对分离菌株进行药物敏感性测定和全基因组测序, 对耐药基因和耐药表型进行比较分析。结果 从259份样品中分离出169株大肠杆菌, 检出率为65.25%, 其中鸡肉和猪肉中大肠杆菌的检出率分别为77.38%和42.86%。药敏试验结果表明大肠杆菌对甲氧苄氨嘧啶-磺胺甲恶唑(鸡肉83.33%, 猪肉91.67%)高度耐药, 其次是多西环素(鸡肉32.35%, 猪肉38.89%), 同时, 它们对庆大霉素、妥布霉素、头孢噻肟、黏菌素等药物都呈现出了不同程度的耐药性。耐药基因分析发现 $\beta$ -内酰胺类基因 $ampC1$ 与 $ampC2$ 携带水平最高, 检出率分别为93.10%、98.28%, 另外也检测到 $ESBL$ 、 $NDM-1$ 、 $mcr-1$ 等重要耐药基因, 其中 $bla_{TEM-ID}$ 和 $bla_{CTX-M-9}$ 是主要存在的 $ESBL$ 耐药基因。结论 目前北京市售鸡肉存在较为严重的大肠杆菌污染, 分离菌株呈现复杂的耐药表型并携带多样的耐药基因, 应加强对生鲜肉类样品的微生物污染和细菌耐药性控制, 尤其是产 $ESBL$ 耐药大肠杆菌, 为预防控制由其引起的食源性疾病提供科学依据。

**关键词:** 鸡肉; 猪肉; 大肠杆菌; 耐药性; 耐药基因

中图分类号: R155

文献标识码: A

文章编号: 1004-8456(2022)02-0211-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2022.02.004

### Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* in raw chicken and pork from Beijing

WU Xuan<sup>1,2,3</sup>, YANG Lu<sup>1,4</sup>, LIU Yanchao<sup>5</sup>, WU Yige<sup>1,2</sup>, LI Hui<sup>1,2</sup>, SHAO Bing<sup>1,2</sup>

- (1. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Centre for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China; 2. Beijing Prevention Medicine Research Center, Beijing 100020, China; 3. School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 4. National Center for Veterinary Drug Safety Evaluation, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 5. School of Public Health, Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia Hohhot 010110, China)

**Abstract: Objective** To investigate the contamination characteristic, antibiotic resistance phenotype and genotype of *Escherichia coli* (*E. coli*) in raw chicken and raw pork in Beijing. **Methods** A total of 259 meat samples (91 pork and 168 chicken) were randomly collected from large and small supermarkets and farmer's markets in various regions of Beijing. *E. coli* was isolated after enrichment. The isolated strains were identified by MALDI-TOF/MS and 16S rRNA sequencing. The Gram-negative bacteria drug sensitivity plate was used for the antimicrobial susceptibility test of the isolated strains, and the whole genome was sequenced to analyze the antibiotic-resistant genotypes. **Results** 169 strains of *E. coli* were isolated from 259 samples, with a detection rate was 65.25%, among which the detection rates of *E. coli* in chicken and pork were 77.38% and 42.86% respectively. The result of antibiotic susceptibility test showed that *E. coli*

收稿日期: 2021-10-11

基金项目: 首都卫生发展科研创新专项(2018-4-3017); 国家重点研发计划项目(2018YFD0500305)

作者简介: 吴萱 女 在读研究生 研究方向为食源性致病菌耐药性研究 E-mail: sylviaxuanwu@qq.com

通信作者: 李会 女 副研究员 研究方向为食源性致病菌耐药性研究 E-mail: lihui@bjcdc.org

was highly resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole (83.33% in chicken and 91.67% in pork), followed by doxycycline (32.35% in chicken and 38.89% in pork). Meanwhile, they also showed different degrees of antibiotic resistance against gentamicin, tobramycin, cefotaxime and colistin. Genotyping analysis found that  $\beta$ -lactam genes *ampC1* and *ampC2* had the highest carrying rate of 93.10% and 98.28%, respectively. In addition, multidrug resistance genotypes such as ESBL, *NDM-1* and *mcr-1* were also detected, among which *bla<sub>TEM-10</sub>* and *bla<sub>CTX-M<sub>9</sub></sub>* were the main ESBL resistance genes. **Conclusion** At present, there is a serious *E. coli* contamination in raw meat in Beijing, especially in chicken. The isolated strains not only showed complex antibiotic-resistance phenotypes, but also carried a variety of antibiotic-resistance genotypes. The control of microbial contamination and bacterial drug resistance in fresh meat samples should be strengthened, especially ESBL-producing *Escherichia coli*, which provided a scientific basis for the prevention and control of foodborne diseases.

**Key words:** Chicken; pork; *Escherichia coli*; antibiotic resistance; resistance gene

抗菌药物广泛应用于畜禽疾病防控与农牧业生产,为保障食品安全与供应作出了重要贡献。然而,随着抗菌药物种类与用量的不断增加,大量畜禽源耐药菌迅速出现并广泛传播<sup>[1]</sup>。目前,细菌耐药性已经成为全球关注的公共卫生问题,其中食源性致病菌耐药性更为引人关注<sup>[2]</sup>。当前国内外正积极开展食源性致病菌耐药性监测和传播流行规律研究,以支持细菌耐药性防控工作<sup>[3]</sup>。养殖业广泛使用抗菌药物造成耐药菌/耐药基因可通过食物链传播,威胁人类健康<sup>[4]</sup>。在动物养殖环节我国已启动食源性致病菌耐药性监测计划,获得了大量的基础数据;近年来,有研究发现在我国多个地区的养殖场及其周边环境检出对 $\beta$ -内酰胺类药物、多黏菌素耐药的革兰氏阴性菌,对万古霉素、利奈唑胺耐药的革兰氏阳性菌,同时发现了介导细菌对高效抗菌药物不敏感的新型耐药基因(*ESBL*、*bla<sub>NDM</sub>*、*bla<sub>KPC</sub>*、*mcr*、*cfr*、*optrA*、*poxtA*等),并对基因的分子流行特征进行了深入研究。但是,在流通环节我们对食品污染菌的耐药情况仍缺乏充分掌握,研究数据相对较少,这在一定程度上影响了我们对耐药菌的全面了解。科学界也一直对耐药菌/耐药基因沿食物链传播对人类健康的影响存有争议。因此,开展食品中细菌耐药现状的调查,评估重要耐药基因携带菌或重要耐药基因是否有沿食物链传播的风险,对完善我国食品安全防控体系,减少食源性病原菌的危害,保障公众身体健康和生命安全具有重要意义。

大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)俗称大肠杆菌,作为人类和其他动物肠道菌群的主要代表,具有一定的致病能力,可引起严重的腹泻和肠外疾病,因此被公认是重要的卫生指示菌,同时也是最主要的食源性致病菌之一<sup>[5-6]</sup>。现有的研究表明零售肉类与大肠杆菌的传播有关。因此,本论文以大肠杆菌为代表,对北京市动物性食品污染菌进行耐药性调查,分析其耐药表型、特定耐药基因的携带

状况,以期了解食品污染菌的耐药现状和耐药株/耐药基因的流行特征,为耐药性风险评估和防控措施制定提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品采集

2020年7~10月从北京市16家大型连锁超市以及农贸市场无菌采集动物性食品(猪肉和鸡肉)259份,其中猪肉91份、鸡肉168份。具体采集产品信息如下:猪肉为市售分割肉,鸡肉为市售鸡肉块。所有样本在采集后,收集在Labplas TWIRL'EM无菌均质袋(加拿大Labplas公司)中,带回实验室检测。将单个样品放入无菌采样袋中,以防止采集样品时交叉污染。质控菌株大肠杆菌ATCC 25922为实验室保存菌株。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

GRP-9050隔水式恒温培养箱(上海培因实验仪器有限公司),麦氏比浊仪(法国BIOMERIEUX),5814R高速离心机(德国Eppendorf公司),Milli-Q超纯水处理系统(德国Merck公司),飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)系统Biotyper(美国Bruker公司),2720型PCR仪(美国AB Applied Biosystems公司)。

LB琼脂培养基、LB肉汤培养基、MHB和BHI培养基购自北京陆桥技术有限责任公司、科玛嘉ECC显色培养基(上海欣中生物工程有限公司)、革兰氏阴性菌药敏检测板(货号GNX3F,美国Thermo Fisher Scientific公司)包含磺胺类、 $\beta$ -内酰胺类、氨基糖苷类、四环素类、喹诺酮类和多黏菌素类21种药物,细菌基因组提取试剂盒购自美国Promega公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 大肠杆菌的分离鉴定

用BHI肉汤冲洗猪肉表面,将冲洗下来的肉汤转移到10 mL EP管中于37℃培养箱中静置过夜,

随后使用 10  $\mu$ L 接种环蘸取培养液于 ECC 选择性培养基上,37  $^{\circ}$ C 培养 18–24 h;通过培养特性、形态学观察挑取平板上蓝色菌落置于 1 mL BHI 液体培养基中,37  $^{\circ}$ C 静止培养 18 h。应用基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱(Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)结合 16 s rRNA 测序对菌株进行鉴定<sup>[7]</sup>。

### 1.2.2 抗生素敏感性测定

根据美国临床和实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standatds Institute, CLSI)推荐的方法<sup>[8]</sup>,将分离菌株用革兰氏阴性菌药敏板进行抗生素敏感性测定。步骤如下:挑取平板上的单菌落用无菌水调整至麦氏比浊度为 0.5,移取 50  $\mu$ L 菌液至药敏板微孔中,用封膜盖上所有微孔后孵育 18–20 h。根据 EUCAST 2020 提供的药敏折点表来判定 *E. coli* 对每种药物的药敏值。

### 1.2.3 细菌全基因组提取及测序

随机选取分离的 58 株菌株,利用 Wizard 基因组 DNA 纯化试剂盒提取总基因组 DNA。DNA 文库使用 KAPA Hyper Prep 试剂盒(瑞士 Roche, Basel)构建。随后使用 Illumina Novaseq 6000 平台(美国 Illumina)进行测序,该平台从一个平均插入大小为

350 bp 的文库中产生 150 bp 配对末端读取。获得大于 550 Mbp 的高质量读数,并使用 SPAdes v. 3.10<sup>[9]</sup> 重新组装,使用默认设置和范围为 21~127 k-mer。使用 pMLST 2.0 数据库识别多位点序列。通过检索综合抗生素研究数据库(CARD, <https://card.mcmaster.ca/download>)。使用 parsnp 软件<sup>[10]</sup>将所有基因组用于构建系统发育树,并最终使用在线工具 iTOL 对这些树进行可视化(<http://itol.embl.de/>)。

## 2 结果

### 2.1 北京市市售鸡肉和猪肉中 *E. coli* 污染特征

从北京市各地区采集的 259 份生鸡肉和猪肉样品中共分离出 169 株 *E. coli*,总检出率为 65.25% (169/259)。鸡肉和猪肉中 *E. coli* 的检出率分别为 77.38% (130/168) 和 42.86% (39/91),可见本次采集的样品中,鸡肉 *E. coli* 污染情况比猪肉更为严重。从各区域来看,西城区检出率达 70.97% (22/31),丰台区检出率较低,为 48.57% (34/70)。朝阳区鸡肉样品中 *E. coli* 检出率高达 97.06% (33/34),污染情况不容忽视,西城区猪肉样品中 *E. coli* 检出率达 66.67% (2/3),也存在较大的污染问题,具体结果见表 1。

表 1 北京地区不同地点食品大肠杆菌污染情况

Table 1 *E. coli* contamination in food from different locations in Beijing

区域	鸡肉			猪肉			检出率合计/%
	检出份数	采集份数	检出率/%	检出份数	采集份数	检出率/%	
东城	18	21	85.71(18/21)	5	12	41.67(5/12)	69.69(23/33)
西城	14	19	73.68(14/19)	8	12	66.67(2/3)	70.97(22/31)
海淀	29	33	87.88(29/33)	5	15	33.33(1/3)	70.88(34/48)
丰台	24	48	50.00(1/2)	10	22	45.45(5/11)	48.57(34/70)
朝阳	33	34	97.06(33/34)	6	18	33.33(1/3)	75.00(39/52)
昌平	12	13	92.31(12/13)	5	12	41.67(5/12)	68.00(17/25)
合计	130	168	77.38(130/168)	39	91	42.86(39/91)	65.25(169/259)

### 2.2 鸡肉和猪肉源 *E. coli* 抗生素耐药表型分析

分离获得的 138 株鸡源和猪源的 *E. coli* 对 21 种抗菌药物的耐药率和 MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub> 结果如表 2、图 1 所示,所有菌株都呈现出多药耐药表型。*E. coli* 对 SXT(鸡肉 83.33%,猪肉 91.67%)高度耐药,其次是 DOX(鸡肉 32.35%,猪肉 38.89%)。除此之外,对于其他药物也呈现出不同水平的耐药性,GEN(鸡肉 27.45%,猪肉 16.67%)、TOB(鸡肉 29.41%,猪肉 11.11%)、CIP(鸡肉 23.53%,猪肉 16.67%)、FOT(鸡肉 25.49%,猪肉 8.33%)、LEVO(鸡肉 19.61%,猪肉 11.11%)、AZT(鸡肉 20.59%,猪肉 8.33%)、A/S2(鸡肉 16.67%,猪肉 5.56%)、MIN(鸡肉 4.90%,猪肉 16.67%)、FEP(鸡肉 16.67%,猪肉 2.78%)、COL(鸡肉 13.73%,猪肉 2.78%)、POL(鸡肉 11.76%,猪肉 2.78%)。另外,猪源 *E. coli* 对

AMI、DOR 和 P/T4 敏感性为 100%。从以上结果可看出,*E. coli* 对磺胺类药物高度耐药,同时,对四环素类抗生素、氨基糖苷类抗生素、氟喹诺酮类抗生素也呈现较强的耐药水平,而对于多肽类抗生素以

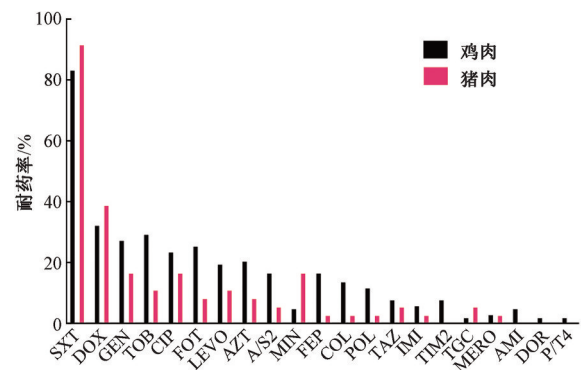


图 1 鸡肉与猪肉来源 *E. coli* 对 21 种抗菌药物的耐药率  
Figure 1 Resistance rate of *E. coli* isolates from chicken and pork to 21 antimicrobials

表2 138株鸡肉与猪肉源 *E. coli* 对21种抗生素的耐药特征分析Table 2 Analysis of antibiotic susceptibility test to 21 antimicrobials of 138 *E. coli* isolates from chicken and pork

类别	抗生素	鸡肉					猪肉				
		S /%	I /%	R /%	MIC <sub>50</sub> /( $\mu$ g/mL)	MIC <sub>90</sub> /( $\mu$ g/mL)	S /%	I /%	R /%	MIC <sub>50</sub> /( $\mu$ g/mL)	MIC <sub>90</sub> /( $\mu$ g/mL)
磺胺类	甲氧苄啶嘧啶/磺胺异恶唑(SXT)	16.67	0.00	83.33	$\geq 4/76$	$\geq 4/76$	8.33	0.00	91.67	$\geq 4/76$	$\geq 4/76$
	头孢噻肟(FOT)	72.55	1.96	25.49	<2	8	91.67	0.00	8.33	<2	8
	氨基甙(AZT)	74.51	4.90	20.59	<2	4	88.89	2.78	8.33	<2	4
	氨苄西林/舒巴坦(A/S2)	70.59	12.75	16.67	<4/2	8/4	72.22	22.22	5.56	<4/2	<4/2
	头孢吡肟(FEP)	80.39	2.94	16.67	<2	4	97.22	0.00	2.78	<2	8
$\beta$ -内酰胺类	头孢他啶(TAZ)	89.22	2.94	7.84	<1	2	91.67	2.78	5.56	<1	4
	亚胺培南(IMI)	89.22	4.90	5.88	<1	<1	94.44	2.78	2.78	<1	<1
	替卡西林/克拉维酸(TIM2)	73.53	18.63	7.84	<16/2	32/2	77.78	22.22	0.00	<16/2	32/2
	美罗培南(MERO)	95.10	1.96	2.94	<1	<1	97.22	0.00	2.78	<1	<1
	多尼培南(DOR)	97.06	0.98	1.96	0.5	0.5	100.00	0.00	0.00	0.5	0.5
氨基糖苷类	派拉西林/他唑巴坦(P/T4)	95.10	2.94	1.96	<8/4	<8/4	100.00	0.00	0.00	<8/4	<8/4
	庆大霉素(GEN)	70.59	1.96	27.45	<1	4	83.33	0.00	16.67	2	8
	妥布霉素(TOB)	67.65	2.94	29.41	2	4	88.89	0.00	11.11	2	8
	阿米卡星(AMI)	94.12	0.98	4.90	<4	8	100.00	0.00	0.00	<4	8
	多西环素(DOX)	42.16	25.49	32.35	8	16	16.67	44.44	38.89	8	16
四环素类	米诺环素(MIN)	81.37	13.73	4.90	<2	8	69.44	13.89	16.67	<2	8
	替加环素(TGC)	98.04	0.00	1.96	0.25	0.5	94.44	0.00	5.56	0.25	0.5
喹诺酮类	环丙沙星(CIP)	74.51	1.96	23.53	0.25	2	80.56	2.78	16.67	0.25	2
	左氧氟沙星(LEVO)	77.45	2.94	19.61	<1	4	80.56	8.33	11.11	<1	4
多黏菌素类	黏菌素(COL)	82.35	3.92	13.73	0.25	0.5	91.67	5.56	2.78	0.25	0.5
	多黏菌素 B(POL)	70.59	17.65	11.76	0.50	1	80.56	16.67	2.78	0.25	1

注:参照 CLSI 的标准判断,耐药(R)、敏感(S)、中介(I)

及临床重要抗生素替加环素则存在一定的耐药性。

### 2.3 *E. coli* 耐药基因携带情况

对 58 株分离所得的 *E. coli* 进行耐药基因组分析,在所检测的耐药基因中, $\beta$ -内酰胺类基因 *ampC1* 与 *ampC2* 检出水平最高,检出率分别为 93.10%、98.28%,另外,也检测到携带 *ESBL* 基因菌株共 29 株,检出率为 50.00%,其中 *bla*<sub>TEM-10</sub> 检出率 25.86%、*bla*<sub>CTX-M<sub>9</sub></sub> 检出率 22.41%、*bla*<sub>OXA-10</sub> 检出率 15.52%、*bla*<sub>CTX-M<sub>1</sub></sub> 检出率 13.79%、*bla*<sub>OXA-1</sub> 检出率 3.45%、*bla*<sub>CMY-17</sub> 检出率 1.72%。值得注意的是,我们在一株鸡肉源 *E. coli* 中检测到碳青霉烯类耐药基因 *bla*<sub>NDM-1</sub>,此菌株呈现出更为严重的多重耐药特性,对多利培南、派拉西林-他唑巴坦等临床重要抗菌药物也呈现出耐药性。耐药基因型分析发现 *ESBL* 在鸡肉和猪肉来源的 *E. coli* 中分布广泛、种类繁多,主要包括 *CMY*、*CTX-M*、*OXA*、*TEM* 和 *AmpC*,而产 *AmpC* 耐药酶 *E. coli* 应当是接下来监测的重点。氨基糖苷类耐药基因 *aac3-Ila*、*aac3-Iva*、*aac6-Ib*、*aadA5*、*aadA*、*strAB*,其中 *aadA* 检出水平最高,耐药表型分析也可见携带这类基因的菌株对庆大霉素、妥布霉素以及阿米卡星都存在一定程度的耐药性;四环素类耐药基因检测到 *tet(A)*、*tet(B)*、*tet(C)*、*tet(D)*、*tet(M)*,其中 *tet(A)* 检出水平最高,而与携带这些基因的 *E. coli* 相对应的耐药表型结果也表明其对多西环素、米诺环素、替加环素都呈现出了高于其他菌株的耐药水平;磺胺类耐药基因检测到 *sul1*、

*sul2*、*sul3*,其中 *sul2* 检出水平最高,而大部分甲氧苄啶嘧啶/磺胺异恶唑耐药菌株都不同程度地携带了这三种基因;酰氨醇类耐药基因检测到 *floR*、*cmIA*、*catA1*、*catB3*;喹诺酮类耐药基因检测到 *oqxAB*、*qnrS*、*qnrD*;多黏菌素类耐药基因 *mcr-1* 在鸡肉源 *E. coli* 检出 7 株,检出率为 12.07%,其中有 6 株 *mcr-1* 基因位于质粒,3 株位于 *Inc12* 质粒,3 株位于 *IncY* 质粒。对于多黏菌素类耐药菌株来说,其耐药基因型与耐药表型的关联性较高,即携带 *mcr-1* 基因的 *E. coli* 呈现出高度耐药,而未携带者均较敏感。具体结果如图 2 所示。

### 3 讨论

食源性致病菌沿食物链导致耐药性传播会对人类健康产生不可避免的威胁。本研究发现北京不同区域销售的鸡肉和猪肉中 *E. coli* 的检出率分别为 77.38% 和 42.86%,鸡肉中 *E. coli* 污染情况要比猪肉更为严重,这可能来源于畜禽肠道及体表,可能来源于屠宰/储存/运输/销售环境,也有可能来源于屠宰/销售人员。李穗霞等<sup>[11]</sup>报道了 2014 年北京市售鸡肉样本中 *E. coli* 的检出率达到 86.8%,而从本研究结果来看,鸡肉食品中 *E. coli* 污染呈现出了一定的下降趋势。于庆华<sup>[12]</sup>报道了 2017—2018 年猪肉中 *E. coli* 的检出率为 72.0%,同样高于本研究。这些数据也表明了虽然北京市售鸡肉和猪肉中存在着不容忽视的污染情况,但近些年来随着食品卫



图2 58株鸡肉和猪肉 *E. coli* 耐药基因的系统发育树分布

Figure 2 Distributions of antimicrobial resistance genes among 58 *E. coli* isolates from chicken and pork across the phylogenetic tree

生意识的增强以及监管力度的不断加大,鸡肉和猪肉食品中的 *E. coli* 污染情况也得到了一定的控制。而对比北京各个区域肉类样品的 *E. coli* 检出率也可看出西城区和朝阳区肉类食品 *E. coli* 污染较为突出,有必要通过遗传标识物追踪或溯源污染菌的来源及关键污染环节,以控制食源性致病菌的传播,保障动物源食品卫生安全。

本研究发现分离的 *E. coli* 菌株对甲氧苄氨嘧啶-磺胺甲恶唑(SXT)呈现普遍高度耐药,多西环素(DOX)次之,对这两种抗生素的耐药率都达到了50%以上,这很可能与畜禽业中普遍使用磺胺类以及四环素类抗菌药物有关。另外,猪肉源分离菌株对替卡西林-克拉维酸、阿米卡星、多利培南和哌拉西林-他唑巴坦具有良好的敏感性,这可能与畜牧业中这些药物为新型抗菌药物,还未大批量投入临床使用相关。WU等<sup>[13]</sup>对我国多个省市零售整鸡中的 *E. coli* 进行了耐药性调查,结果发现,对磺胺类药物耐药率高达70.1%,其他药物如环丙沙星等也表现出较高的耐药率。ZHANG等<sup>[14]</sup>调查了2008—2015年食物源 *E. coli* 的耐药趋势,发现 *E. coli* 对氨基苄西林、四环素和磺胺异恶唑等表现出80%以上的耐药率。可见 *E. coli* 的污染和耐药不仅在北京呈现出极为严重的趋势,在我国各地的耐药情况都不容乐观。

通过对58株 *E. coli* 进行全基因组分析发现北京市售鸡肉及猪肉中携带β-内酰胺类耐药基因情

况十分严重, *ampC1* 与 *ampC2* 的检出水平分别为93.10%、98.28%,远高于WEI等<sup>[15]</sup>在韩国农鲜市场检测鸡肉源 *E. coli ampC* 基因的检出率36.8%,而RANDALL等<sup>[16]</sup>总结了英国零售鸡肉中 *E. coli ampC* 基因检出率从2013—2014年的65.4%降到了2018年的7.4%,可见我国生肉源 *E. coli ampC* 耐药基因的富集和变迁高于其他国家。BUSH等<sup>[17]</sup>表明了携带 *ampC* 基因的 *E. coli* 在世界范围内形成的耐药性威胁,随着β-内酰胺类药物对其的选择作用不断增加,其会在供应链途径中不断变异和传播,造成严重的公共卫生问题。WU等<sup>[18]</sup>报道了我国多省份鸡源 *E. coli* 产ESBL基因以及 *mcr-1* 流行情况, *blaCTX-M* 基因检出率92.7%,是最为常见的ESBL编码基因。KIM等<sup>[19]</sup>发现禽致病性 *E. coli* 带有多种毒力和抗性基因,ESBL基因 *bla<sub>TEM-1</sub>* 检出率较高(29.1%),氨基糖苷类基因以及质粒介导的喹诺酮类耐药基因也呈现出较高的检出率,与本研究结果相似。在本次研究中, *E. coli* 分离菌株对磺胺类药物呈现出普遍耐药性,但从基因型来看, *sul1*、*sul2*、*sul3* 这三种磺胺类耐药基因检出率不高,这也提示着我们 *E. coli* 对磺胺类药物可能存在新的耐药机制。多肽类药物黏菌素作为临床治疗革兰氏阴性菌感染的“最后一道防线”,但随着质粒介导的可转移多黏菌素耐药基因 *mcr* 的发现,为防止该类基因导致的耐药性传播流行趋势,我国已禁止黏菌素作为饲料添加剂使用。然而,我们在鸡肉源 *E. coli*

中发现 *mcr-1* 仍存在较高的携带水平,这提示我们应对动物性食品中食源性致病菌携带该类耐药基因情况加以严格监控。

综上,本研究揭示了北京市不同区域市售肉类食品中大肠杆菌的污染特征和耐药特征,发现鸡肉中大肠杆菌的污染较猪肉更为严重。这些动物性食品来源的菌株呈现出明显的多药耐药表型,尤其是对磺胺类和四环素类药物。 $\beta$ -内酰胺类基因 *ampC1* 与 *ampC2* 是主要存在的耐药基因,同时粘菌素耐药基因 *mcr-1* 在鸡肉来源大肠杆菌中存在较高携带水平。采取更好的监测方法加强对多重耐药食源性致病大肠杆菌的出现和传播有利于更好地保障食品安全。因此,应持续加强对北京地区肉类食品源、食品动物源和临床大肠杆菌多重耐药大肠杆菌传播流行规律和进化的研究,为细菌耐药性风险评估和防控措施制定提供科学依据。

#### 参考文献

- [ 1 ] ROTH N, KÄSBOHRER A, MAYRHOFER S, et al. The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview [J]. Poultry Science, 2019, 98 (4): 1791-1804.
- [ 2 ] CANIÇA M, MANAGEIRO V, ABRIQUEL H, et al. Antibiotic resistance in foodborne bacteria [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 84: 41-44.
- [ 3 ] CANTÓN R, BRYAN J. Global antimicrobial resistance: from surveillance to stewardship. Part 1: surveillance and risk factors for resistance [J]. Expert Review of Anti-Infective Therapy, 2012, 10(11): 1269-1271.
- [ 4 ] OVERDEVEST I. Extended-spectrum B-lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, the Netherlands [J]. Emerging Infectious Diseases, 2011, 17 (7): 1216-1222.
- [ 5 ] BELINA D, HAILU Y, GOBENA T, et al. Prevalence and epidemiological distribution of selected foodborne pathogens in human and different environmental samples in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis [J]. One Health Outlook, 2021, 3 (1): 1-30.
- [ 6 ] POIREL L, MADEC J Y, LUPO A, et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* [J]. Microbiology Spectrum, 2018, 6(4).
- [ 7 ] CARBONNELLE E, MESQUITA C, BILLE E, et al. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory [J]. Clinical Biochemistry, 2011, 44 (1): 104-109.
- [ 8 ] WAYNE P. CLSI, 2020. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th ed. [M]. CLSI. 2020.
- [ 9 ] BANKEVICH A, NURK S, ANTIPOV D, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing [J]. Journal of Computational Biology, 2012, 19 (5): 455-477.
- [ 10 ] TREANGEN T J, ONDOV B D, KOREN S, et al. The Harvest suite for rapid core-genome alignment and visualization of thousands of intraspecific microbial genomes [J]. Genome Biology, 2014, 15 (11): 524.
- [ 11 ] 李穗霞, 席美丽, 王盼盼, 等. 8省市鸡肉源性大肠杆菌分离鉴定及其耐药性检测 [J]. 中国人兽共患病学报, 2018, 34 (2): 158-164.  
LI H X, XI M L, W P P, et al. Identification and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from chicken in different provinces [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2018, 34(2): 158-164.
- [ 12 ] 于庆华. 不同动物源食品中大肠杆菌分离鉴定与耐药性分析 [J]. 饲料研究, 2019, 42(2): 50-52.  
YU Q H. Butong dongwuyuan shipinzhong dachangganjun fenli jiangding yu naiyaoxing fenxi [J]. Feed Research, 2019, 42(2): 50-52.
- [ 13 ] WU Q, XI M L, LV X, et al. Presence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* recovered from retail chicken in China [J]. Journal of Food Protection, 2014, 77 (10): 1773-1777.
- [ 14 ] ZHANG P, SHEN Z Q, ZHANG C P, et al. Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* from chicken and swine, China, 2008-2015 [J]. Veterinary Microbiology, 2017, 203: 49-55.
- [ 15 ] WEI B, SHANG K, CHA S Y, et al. Conjugative plasmid-mediated extended spectrum cephalosporin resistance in genetically diverse *Escherichia coli* from a chicken slaughterhouse [J]. Animals, 2021, 11 (9): 2491.
- [ 16 ] RANDALL L P, HORTON R H, CHANTER J I, et al. A decline in the occurrence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in retail chicken meat in the UK between 2013 and 2018 [J]. Journal of Applied Microbiology, 2021, 130 (1): 247-257.
- [ 17 ] BUSHK BRADFORD P A. Epidemiology of beta-lactamase-producing pathogens [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2020, 33 (2): e00047-19.
- [ 18 ] WU C M, WANG Y C, SHI X M, et al. Rapid rise of the ESBL and *mcr-1* genes in *Escherichia coli* of chicken origin in China, 2008-2014 [J]. Emerging Microbes & Infections, 2018, 7 (1): 1-10.
- [ 19 ] KIM Y B, YOON M Y, HA J S, et al. Molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* from broiler chickens with colibacillosis [J]. Poultry Science, 2020, 99 (2): 1088-1095.